HDL Ultra Cholesterol Reagent

CATALOGUE NUMBER: 6121 **SIZE:** R1 1 x 60 mL
R2 1 x 20 mL
6122 R1 1 x 250 mL
R2 1 x 80 mL

INTENDED USE

For the quantitative measurement of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentration in human serum or plasma.

TEST SUMMARY

Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. The phospholipid, free cholesterol and protein constitute the outer surface of the lipoprotein particle, while the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglyceride. These particles serve to solubilize and transport cholesterol and triglyceride in the bloodstream.

The relative proportions of protein and lipid determine the density of these lipoproteins and provide a basis on which to begin their classification.[1] The classes are: chylomicron, very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL). Numerous clinical studies have shown that the different lipoprotein classes have very distinct and varied effects on coronary heart disease risk.[2]

The principle role of HDL in lipid metabolism is the uptake and transport of cholesterol from peripheral tissues to the liver through a process known as reverse cholesterol transport (a proposed cardioprotective mechanism).[3] Low HDL-C levels are strongly associated with an increased risk of coronary heart disease and coronary artery disease.[4-9] Hence, the determination of serum HDL-C is a useful tool in identifying high-risk patients. The Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program (NCEP) recommends that in all adults 20 years of age and over, a fasting lipoprotein profile (total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglyceride) should be obtained once every five years to screen for coronary heart disease risk.[10]

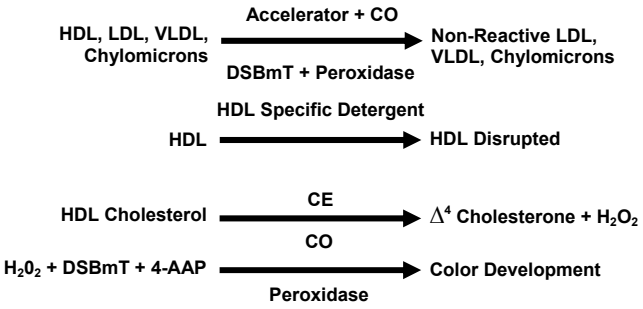
The reference method for the quantification of HDL-C combines ultracentrifugation and chemical precipitation to separate HDL from other lipoproteins, followed by cholesterol measurement by the Abell-Kendall method.[11] The first routine methods widely utilized by laboratories involved selective precipitation and removal of LDL and VLDL, followed by the enzymatic measurement of HDL-C in the supernatant fraction.[11] Since these methods require off-line pretreatment and separation steps the assay procedures cannot be fully automated. As a result, routine determination of HDL-C has suffered from long handling times and poor reproducibility.

TEST PRINCIPLE

The HDL Ultra Cholesterol assay is a homogeneous method for directly measuring HDL-C concentrations in serum or plasma without the need for any off-line pretreatment or centrifugation steps.

The method is in a two reagent format and depends on the properties of a unique detergent, as illustrated. This method is based on accelerating the reaction of cholesterol oxidase (CO) with non-HDL unesterified cholesterol and dissolving HDL selectively using a specific detergent. In the first reagent, non-HDL unesterified cholesterol is subject to an enzyme reaction and the peroxide generated is consumed by a peroxidase reaction with DSBmT yielding a colorless product. The second reagent consists of a detergent capable of solubilizing HDL specifically, cholesterol esterase (CE) and chromogenic coupler to develop color for the quantitative determination of HDL-C. This may be referred to as the Accelerator Selective Detergent methodology.

Accelerator Selective Detergent Methodology



REAGENTS
Composition of Reagents:

Component	Ingredients	Concentration
Reagent 1	Buffer	
	Cholesterol oxidase (Fr: E. Coli)	<1000 U/L
	Peroxidase (Fr: Horseradish)	<1300 ppg U/L
	N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium(DSBmT)	<1 mM
	Accelerator	<1 mM
	Preservative	<0.06%
	Ascorbic Oxidase (Fr: Curcubita sp.)	<3000 U/L
Reagent 2	Buffer	
	Cholesterol esterase (Fr: Pseudomonas sp.)	<1500 U/L
	4-Aminoantipyrine (4-AAP)	<1 mM
	Detergent	<2%
	Preservative	

WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR USE

1. For *In Vitro* Diagnostic Use.
2. Do not pipette by mouth.
3. All specimens used in the test should be considered potentially infectious. Universal precautions as they apply to your facility should be used for handling and disposal of materials during and after testing.
4. Do not use the reagents after the expiration date printed on the reagent label.
5. HDL Ultra Cholesterol Reagent must be used with HDL Ultra Cholesterol Calibrator.

See Material Safety Data Sheet for additional information.

REAGENT PREPARATION, STORAGE AND STABILITY

Reagent 1: Ready to use as packaged.
Reagent 2: Ready to use as packaged.

Store HDL Ultra Cholesterol reagents at 2-8°C.

Unopened reagents are stable until the expiration date on the reagent bottle label.

Reagent 1 is stable open on the analyzer for 4 weeks at 2-8°C.
Reagent 2 is stable open on the analyzer for 4 weeks at 2-8°C.

DO NOT FREEZE

REAGENT DETERIORATION

The following indicates deterioration:
Inability to recover control values.
Presence of turbidity.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State and local regulations.

SPECIMEN

Serum, EDTA-treated or heparinized plasma drawn from the patient after a 12 – 14 hour fast are the required specimens.

Serum: Collect whole blood by venipuncture and allow to clot. Centrifuge and remove the serum as soon as possible after collection (within 3 hours).[11]

Plasma: Specimens may be collected in EDTA or lithium or sodium heparin. Centrifuge and remove the plasma as soon as possible after collection (within 3 hours).[11]

Serum or plasma should not remain at 15-30°C longer than 14 hours. If assays are not completed within 14 hours, serum or plasma should be stored at 2-8°C for up to 1 week. If specimens need to be stored for more than 1 week, they may be preserved at less than -70°C for up to 3 months. Samples may be frozen once. Refer to NCCLS Document H18-A for further instructions on specimen collection, handling, and storage.

ANALYTICAL SPECIFICITY

All interference studies were conducted according to a modified NCCLS guideline No. EP7 for interference testing in clinical chemistry.[13]

Substances Tested	**Concentration with no significant (±10%) interference**
Bilirubin Conjugated	60 mg/dL
Bilirubin Total	60 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Ascorbic Acid	100 mg/dL
Lipemia using Intralipid®	1800 mg/dL
Gamma-globulins	5000 mg/dL

The information presented above is based on results from Sekisui Diagnostics' studies and is current at the date of publication.

Refer to the work of Young for a review of drug effects on serum HDL cholesterol levels.[14]

ANALYTICAL PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED

Both the HDL Ultra Cholesterol Reagent 1 and Reagent 2 are required for the measurement of HDL cholesterol.

Description	**Configuration**	**Catalog Number**
HDL Ultra Cholesterol Reagent	R1 1 x 60 mL R2 1 x 20 mL	6121
HDL Ultra Cholesterol Reagent	R1 1 x 250 mL R2 1 x 80 mL	6122

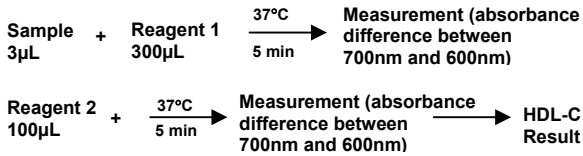
MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

Description	**Configuration**	**Catalog Number**
HDL Ultra Cholesterol Calibrator	3 x 1 mL	6272-3

1. HDL cholesterol control sera or quality control material (See "Quality Control Procedures").
2. Automated clinical chemistry analyzer capable of accommodating two-reagent assays.
3. Class A volumetric pipettes.
4. Distilled, deionized, Type II water or equivalent.

TEST CONDITION

Below is a general example of the HDL Ultra Cholesterol assay procedure for an automated analyzer.



For assistance with applications on automated analyzers, please contact Sekisui Diagnostics Technical Services at 1-800-565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

The HDL Ultra Cholesterol Calibrator is required for calibration. The value of the HDL Ultra Cholesterol Calibrator was assigned by procedures traceable to the CDC HDL cholesterol reference method.[20, 21] Calibration materials have concentrations at approximately the medical decision level. Refer to the HDL Ultra Cholesterol Calibrator kit package insert for instructions. Refer to the instrument operator's manual for analyzer specific procedures and for guidance in determining calibration frequency.

Quality Control values should be within the expected range.

QUALITY CONTROL

Reliability of test results should be routinely monitored with control sera or quality control materials that reasonably emulate performance on patient specimens.[11] The National Cholesterol Education Program (NCEP) Lipid Standardization Panel (LSP) recommends two levels of controls, one in the normal range (40-65 mg/dL) and one near the concentrations for decision making (<40 mg/dL). An acceptable range of HDL cholesterol values should be established by each laboratory. If control values are not within the expected range, confirm that procedures were performed correctly and follow normal troubleshooting measures. If assistance is required call Sekisui Diagnostics Technical Services at 1-800-565-0265.

Quality control requirements should be established in accordance with local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements.

TEST LIMITATIONS

1. Anticoagulants containing citrate should not be used.
2. Protect the reagents from direct sunlight.
3. Store the reagents at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
4. The NCEP recommends that dietary and/or drug treatment not be based on a single HDL cholesterol result.
5. Lipemia: no interference from Intralipid® up to 1800 mg/dL.
6. Endogenous triglyceride levels gave acceptable performance up to 2000 mg/dL. Samples with triglyceride level >2000 mg/dL should not be diluted.
7. Samples from patients of cirrhotic liver have been reported to give HDL results lower than reported from reference method.[15]

REFERENCE INTERVALS

The following NCEP cutpoints for patient classification are used to assess the risk and management of coronary heart disease.[10, 16]

Males: 30 - 70 mg/dL
Females: 30 - 85 mg/dL

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

RESULTS

To convert from conventional units to S.I. units, multiply the conventional units by 0.0259.

mg/dL x 0.0259 = mmol/L HDL-Cholesterol

REPORTABLE RANGE

Linearity studies were conducted using a cholesterol linearity verifier. Linearity samples were prepared according to the package insert instructions. The HDL Ultra Cholesterol reagent was found to be linear from 2.5 mg/dL to 200 mg/dL with a deviation from the linear line of less than or equal to 4 mg/dL or 5%. Patient samples with HDL cholesterol levels exceeding 200 mg/dL should be diluted with physiological saline before assaying. Multiply the result obtained from the manual dilution by the appropriate dilution factor.

PRECISION STUDIES

Within-run precision for the HDL Ultra Cholesterol method was determined using three levels of frozen pooled human serum. Each run consisted of twenty replicate samples. Within-run precision studies produced the following results on the Hitachi 911 Analyzer:

Serum Pool	LOW	MID	HIGH
n	20	20	20
Mean (mg/dL)	32.9	50.6	101.4
Standard Deviation (mg/dL)	0.3	0.2	0.7
Coefficient of Variation (%)	0.8	0.5	0.7

Between-run precision was determined using three levels of frozen pooled human serum. The HDL Ultra Cholesterol assay was run in duplicate and analyzed twice per day over 10 days. Between-run precision studies produced the following results:

Serum Pool	LOW	MID	HIGH
n	40	40	40
Mean HDL Cholesterol(mg/dL)	32.8	50.0	100.1
Standard Deviation (mg/dL)	0.4	0.7	1.1
Coefficient of Variation (%)	1.3	1.5	1.1

TOTAL ERROR DETERMINATION

Total error[11,17,18] is a measure of the overall analytical performance of an assay, and combines both accuracy and precision. Total error is equal to the % Bias + 1.96 x the Total C.V. (CV_T).[19] The % Bias of the HDL Ultra Cholesterol assay was calculated using the linear regression formula, derived from the comparison of the HDL Ultra Cholesterol method to the Designated Comparison Method for HDL cholesterol shown above.[17,18] The CV is calculated as $CV_T = (CV_B^2 + CV_W^2)^{1/2}$.[19] The results of the total error analysis for the HDL Ultra Cholesterol assay on the Hitachi 911 Analyzer at low, medium and high HDL Cholesterol levels using samples with triglycerides <400 mg/dL are shown below.

HDL Cholesterol Concentration	% Bias	Total CV	Total Error
30 mg/dL	8.05%	1.53%	11.05%
50 mg/dL	4.31%	1.58%	7.40%
80 mg/dL	2.21%	1.29%	4.73%

ACCURACY

Accuracy of the HDL Ultra Cholesterol method was verified by comparison to the Designated Comparison Method (DCM) for HDL cholesterol[12] and the previous HDL Ultra Cholesterol Assay.

Studies comparing the HDL Ultra Cholesterol Assay to the DCM produced the following results on the Hitachi 911 Analyzer:

Method	HDL Ultra Cholesterol	Designated Comparison Method (DCM)
n	52	52
Mean (mg/dL)	58.3	56.3
Range (mg/dL)	33.6-133.0	32.0-133.0
Regression Analysis	Ultra = 0.99(DCM) + 2.81 mg/dL	
Correlation Coefficient	0.996	

Studies comparing the HDL Ultra Cholesterol method to the previous HDL Direct Liquid Select Cholesterol method produced the following results:

Method	HDL Ultra Cholesterol	Previous HDL Direct Liquid Select Cholesterol
n	101	101
Mean (mg/dL)	56.4	54.2
Range (mg/dL)	33.6-133.0	31.5-132.8
Regression Analysis	Ultra = 0.98 (Liquid) + 3.42 mg/dL	
Correlation Coefficient	0.996	

OTHER PERFORMANCE STUDIES

In a study comparing the HDL Ultra Cholesterol method to the Reference Method (RM) for HDL cholesterol (ultracentrifugation, chemical precipitation and Abell-Kendall cholesterol analysis)[11] 41 patient specimens with elevated triglyceride values (triglyceride levels greater than the 95th percentile) were analyzed. The correlation coefficient for this study was r = 0.968 and the regression equation was HDL Ultra Cholesterol = 1.01 RM – 2.48 mg/dL. Patient specimens with triglyceride levels up to 2,000 mg/dL may be used.

Separate studies comparing the lyophilized HDL Cholesterol assay to the phosphotungstic acid (PTA) precipitation method at three Physician's Office Laboratories (POL) produced the following results:

POL Current Method	POL Site 1	POL Site 2	POL Site 3
n	40	42	40
HDL Mean (mg/dL)	47	45	58
HDL Range (mg/dL)	24.4-89.7	28.3-94.9	25.8-97.1
Slope	0.88	1.05	0.77
Intercept (mg/dL)	2.90	-1.32	11.10
Correlation Coefficient	0.97	0.99	0.98

Within-run precision at the three POL sites was determined using three levels of frozen pooled human serum. Each run consisted of twenty replicate samples. Within-run precision studies at the three POL sites produced the following results:

Serum Pool	LOW <35 mg/dL	MID 35-60 mg/dL	HIGH >60 mg/dL
POL Site 1	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	19.5	44.1	70.8
S.D. (mg/dL)	0.6	1.8	1.1
C.V. (%)	2.9	4.0	1.5
POL Site 2	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	29.5	49.3	71.5
S.D. (mg/dL)	1.8	2.4	3.6
C.V. (%)	6.2	4.8	5.1
POL Site 3	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	33.3	45.6	76.8
S.D. (mg/dL)	0.3	0.4	0.5
C.V. (%)	1.0	0.8	0.7

Note: Each site received a unique set of three serum pools.

Between-run precision was determined at three POL sites using three levels of frozen pooled human serum. The HDL Cholesterol assay was run in duplicate over multiple days. Between-run precision studies produced the following results:

Serum Pool	LOW <35 mg/dL	MID 35-60 mg/dL	HIGH >60 mg/dL
POL Site 1	n=16	n=16	n=16
Mean (mg/dL)	19.0	41.2	65.3
S.D. (mg/dL)	1.3	1.8	3.4
C.V. (%)	6.9	4.5	5.2
POL Site 2	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	25.7	46.4	68.2
S.D. (mg/dL)	1.4	1.6	2.4
C.V. (%)	5.3	3.4	3.5
POL Site 3	n=40	n=40	n=40
Mean (mg/dL)	33.6	45.7	76.2
S.D. (mg/dL)	0.8	0.9	1.5
C.V. (%)	2.4	2.0	2.0

Note: Each site received a unique set of three serum pools.

All trademarks, brands, product names and trade names are the property of their respective companies.

SEKISUI DIAGNOSTICS

The Americas
Sekisui Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada
Phone: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Email: questions@sekisuidiagnostics.com
peidiagnostictechnical@sekisuidiagnostics.com

International
Sekisui Diagnostics (UK) Limited
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, UK
Email: info@sekisuidiagnostics.com

www.sekisuidiagnostics.com

HDL Ultra Cholesterol Réactif

NUMÉRO DE CATALOGUE: 6121 **TAILLE:** R1 1 x 60 mL
R2 1 x 20 mL
6122 R1 1 x 250 mL
R2 1 x 80 mL

UTILISATION PRÉVUE

Pour la mesure quantitative de la concentration de cholestérol des lipoprotéines à haute densité (HDL-C) dans le sérum humain ou le plasma.

RÉSUMÉ DES TESTS

Les lipoprotéines du plasma sont des particules sphériques contenant des quantités variables de cholestérol, de triglycérides, de phospholipides et de protéines. Les phospholipides, le cholestérol libre et la protéine constituent la surface extérieure de la particule de lipoprotéine, alors que le noyau interne contient surtout du cholestérol estérifié et des triglycérides. Ces particules servent à solubiliser et à transporter le cholestérol et les triglycérides dans le courant sanguin.

Les proportions relatives de protéines et de lipides déterminent la densité de ces lipoprotéines et forment une base sur laquelle commencer leur classification.[1] Ces classes sont: chylomicron, lipoprotéine à très faible densité (VLDL), lipoprotéine à faible densité (LDL) et lipoprotéine à haute densité (HDL). De nombreuses études cliniques ont montré que les différentes classes de lipoprotéines ont des effets très distincts et variés sur le risque de coronaropathie.[2]

Le principal rôle du HDL dans le métabolisme des lipides est le captage et le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie par un processus connu sous le nom de transport inverse du cholestérol (un mécanisme cardioprotecteur proposé). Des niveaux faibles de HDL-C sont fortement associés à un risque accru de coronaropathie et de maladie coronarienne.[4-9] D'où, la détermination du sérum HDL-C est un outil utile pour déterminer les patients à haut risque. Le Adult Treatment Panel du National Cholesterol Education program (NCEP) recommande que chez tous les adultes de 20 ans ou plus, un profil de lipoprotéine à jeun (cholestérol total, cholestérol LDL, cholestérol HDL et triglycérides) devrait être obtenu une fois tous les cinq ans pour le dépistage du risque de coronaropathie.[10]

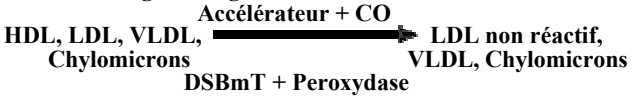
La méthode de référence pour la quantification du HDL-C combine l'ultracentrifugation et la précipitation chimique pour séparer le HDL des autres lipoprotéines, suivi par une mesure du cholestérol par la Méthode Abell-Kendall.[11] Les premières méthodes de routine largement utilisées par les laboratoires impliquaient la précipitation sélective et le retrait du LDL et du VLDL, suivi par la mesure enzymatique du HDL-C dans la fraction surnageante,.[11] Puisque ces méthodes nécessitaient un prétraitement hors ligne et des étapes de préparation, les procédures de dosage ne pouvaient pas être entièrement automatisées. Ainsi, la détermination de routine du HDL-C a souffert de temps de traitement longs et d'une faible reproductibilité.

PRINCIPE DU TEST

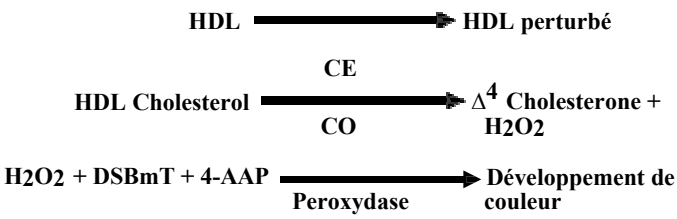
Le dosage HDL Ultra Cholesterol est une méthode homogène pour mesurer directement les concentrations de HDL-C dans le sérum ou le plasma sans avoir besoin d'un prétraitement hors ligne ou d'étapes de centrifugation.

La méthode est dans un format à deux réactifs et dépend des propriétés d'un détergent unique, comme illustré. Cette méthode est basée sur l'accélération de la réaction du cholestérol oxydase (CO) avec un cholestérol non HDL non estérifié et sur la dissolution du HDL sélectivement en utilisant un détergent spécifique. Dans le premier réactif, le cholestérol non HDL non estérifié est soumis à une réaction enzymatique et le peroxyde généré est consumé par une réaction peroxydase avec DSBmT donnant un produit sans couleur. Le second réactif consiste en un détergent capable de solubiliser le HDL spécifiquement, un cholestérol estérase (CE) et un coupleur chromogène pour développer une couleur pour la détermination quantitative du HDL-C. On peut référer à ce processus comme étant la Méthodologie détergent sélectif et accélérateur.

Méthodologie détergent sélectif et accélérateur



Détergent spécifique HDL



RÉACTIFS

Composition des réactifs:

Pièce	Ingrédients	Concentration
Réactif 1	Tampon	
	Cholestérol oxydase (Fr: E. Coli)	<1000 U/L
	Peroxydase (Fr: Raifort)	<1300 ppg U/L
	N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium(DSBmT)	<1 mM
	Accélérateur	<1 mM
	Préservatif	<0,06 %
	Oxydase ascorbique (Fr: Curcubita sp.)	<3000 U/L
Réactif 2	Tampon	
	Cholestérol estérase (Fr : Pseudomonas sp.)	<1500 U/L
	4-Aminoantipyrine (4-AAP) Détergent	<1 mM
	Préservatif	<2 %

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE RELATIVES À L'EMPLOI

1. Pour usage diagnostic *in vitro*.
2. Ne pas pipetter par la bouche.
3. Tous les échantillons utilisés dans le test doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Utiliser les précautions universelles en vigueur dans votre établissement pour manipuler et mettre au rebut les produits pendant et après le test.
4. Ne pas utiliser les réactifs après la date d'expiration imprimée sur l'étiquette du réactif.
5. HDL Ultra Cholesterol Réactif doit être utilisé avec HDL Ultra Cholesterol Calibrator.

Voir la Material Safety Data Sheet pour les informations supplémentaires.

PRÉPARATION, CONSERVATION ET STABILITÉ DU RÉACTIF

Réactif 1: Prêt à l'emploi tel qu'emballé.
Réactif 2: Prêt à l'emploi tel qu'emballé.

Conserver les réactifs Ultra HDL Cholesterol à 2-8°C.

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date d'expiration sur l'étiquette de la bouteille de réactif.

Le réactif 1 est stable ouvert sur l'analyseur durant 4 semaines à 2-8°C.

Le réactif 2 est stable ouvert sur l'analyseur durant 4 semaines à 2-8°C.

NE PAS CONGELER

DÉTÉRIORATION DU RÉACTIF

Le suivre indique la deterioration:

Incapacité à recouvrer les valeurs de contrôle.
Présence de turbidité

ÉLIMINATION

Les réactifs doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations locale, fédérale, provinciale et de l'État.

SPÉCIMEN

Les échantillons requis sont le sérum, le plasma traité EDTA ou hépariné prélevé du patient après un jeûne de 12 à 14 heures.

Sérum: Recueillir le sang total par ponction veineuse et laisser coaguler. Centrifuger et enlever le sérum aussitôt que possible après la collecte (dans les 3 heures).[11]

Plasma: Les échantillons peuvent être recueillis avec l'EDTA, l'héparine au lithium ou au sodium. Centrifuger et enlever le plasma aussitôt que possible après la collecte (dans les 3 heures).[11]

Le sérum ou le plasma ne devraient pas demeurer à 15-30°C durant plus de 14 heures. Si les dosages ne sont pas complétés dans les 14 heures, le sérum ou le plasma devrait être conservé à 2-8°C jusqu'à 1 semaine. Si les échantillons doivent être conservés durant plus 'une semaine, ils peuvent être conservés à moins de -70°C durant au plus 3 mois. Les échantillons peuvent être congelés une fois. Se référer au document NCCLS H18-A pour de plus amples instructions sur la collecte d'échantillons, leur manipulation et leur stockage.

SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

Toutes les études d'interférences ont été menées conformément à une directives NCCLS modifiée No. EP7 pour les tests d'interférences en chimie clinique.[13]

Substances testées	**Concentration sans interférence significative (±10 %)**
Bilirubine (directe)	60 mg/dL
Bilirubine (totale)	60 mg/dL
Hémoglobine	1000 mg/dL
Acide ascorbique	100 mg/dL
Lipémie en utilisant Intralipid®	1800 mg/dL
Gamma-globulines	5000 mg/dL

Les renseignements susmentionnés sont basés sur les résultats obtenus dans le cadre des études de Sekisui Diagnostics. Ils sont à jour à la date de publication.

Se référer aux travaux de Young pour une révision des effets des médicaments sur les niveaux de cholestérol HDL dans le sérum.[14]

PROCÉDURE ANALYTIQUE

MATÉRIEL FOURNI

Les Réactifs 1 et 2 HDL Ultra Cholesterol sont nécessaires pour mesurer le cholestérol HDL.

Description	Configuration	Numéro de catalogue
HDL Ultra Cholesterol Réactif	R1 1 x 60 mL R2 1 x 20 mL	6121
HDL Ultra Cholesterol Réactif	R1 1 x 250 mL R2 1 x 80 mL	6122

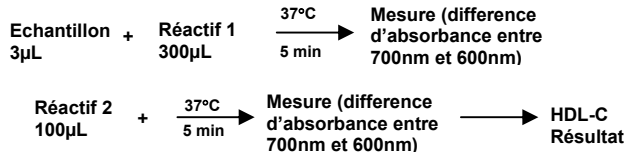
MATÉRIEL REQUIS (MAIS NON FOURNI)

Description	Configuration	Numéro de catalogue
HDL Ultra Cholesterol Calibrator	3 x 1 mL	6272-3

1. Les sérums de contrôle de cholestérol HDL ou du matériel de contrôle de qualité (Voir « Contrôle de qualité »).
2. Automate d'analyse de chimie clinique pouvant effectuer des analyses biochimiques à deux réactifs.
3. Pipettes volumétriques classe A.
4. Eau distillée, déminéralisée, Type II ou équivalent.

CONDITIONS DU TEST

Voici un exemple général de procédure de dosage HDL Ultra Cholesterol pour un analyseur automatique.



Pour tout renseignement complémentaire concernant les applications sur les automates d'analyses, contacter Sekisui Diagnostics Technical Services au 1-800-565-0265. À l'extérieur du Canada et des États-Unis, veuillez prendre contact avec votre distributeur local.

ÉTALONNAGE

Le HDL Ultra Cholesterol Calibrator est nécessaire pour la calibration. La valeur du HDL Ultra Cholesterol Calibrator a été assignée par les procédures traçables de la méthode de référence du cholestérol HDL du CDC.[20,21] Les matériaux de calibration ont des concentrations à environ le niveau de décision médicale. Veuillez vous référer à la notice de l'ensemble de HDL Ultra Cholesterol Calibrator pour les instructions. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument pour les procédures spécifiques de l'automate d'analyses et les directives de calcul de la fréquence de calibration.

Les valeurs de contrôle de qualité devraient se trouver dans les limites de la fourchette prévue.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

La fiabilité des résultats de test devrait être surveillée de façon routinière avec un sérum de contrôle ou des matériaux de contrôle de qualité qui imitent raisonnablement la performance des échantillons de patients.[11] Le profil de normalisation des lipides du National Cholesterol Education Program (NCEP) recommande deux niveaux de contrôle, un dans la plage normale (40-65 mg/dL) et un près des concentrations pour la prise de décision (<40 mg/dL). Une plage de valeurs de cholestérol HDL acceptable devrait être établie par chaque laboratoire. Si les valeurs de contrôle ne sont pas à l'intérieur de la plage attendue, confirmer que les procedures ont été effectuées correctement et suivre les mesures de dépannage normales. Si vous avez besoin d'aide, contactez Sekisui Diagnostics Technical Services au 1-800-565-0265.

Les exigences de contrôle de qualité devraient être établies en accord avec les règlementations locales, régionales et/ou fédérales ou avec les exigences d'accréditation.

LIMITES DES TESTS

1. Les anticoagulants contenant du citrate ne devraient pas être utilisés.
2. Protéger les réactifs de la lumière directe du soleil.
3. Conserver les réactifs à 2-8°C. Ne pas congeler les réactifs.
4. Le NCEP recommande qu'un traitement diététique et/ou médicamenteux ne soit pas basé sur un seul résultat de cholestérol HDL.
5. Lipémie: aucune interférence causée par Intralipid® jusqu'à 1800 mg/dL.
6. Les niveaux de triglycéride endogène donnent une performance acceptable jusqu'à 2000 mg/dL. Les échantillons avec un niveau de triglycéride >2000 mg/dL ne devraient pas être dilués.
7. On rapporte que les échantillons de patients avec un foie cirrhotique donnent des résultats HDL plus faibles que ceux selon la méthode de référence.[15]

INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les seuils suivant par le NCEP pour la classification de patient sont utilisés pour évaluer le risque et la gestion de la coronaropathie.[10,16]

Hommes: 30 - 70 mg/dL
Femmes: 30 - 85 mg/dL

CARACTÉRISTIQUES LIÉES AU COMPORTEMENT

RÉSULTATS

Pour convertir des unités conventionnelles aux unités SI, multiplier les unités conventionnelles par 0,0259.

mg/dL x 0,0259 = mmol/L de cholestérol HDL

INTERVALLE DE SIGNALEMENT

Des études de linéarité ont été menées à l'aide du vérificateur de linéarité de cholestérol. Les échantillons de linéarité ont été préparés conformément aux instructions de la notice. Le HDL Ultra Cholesterol Réactif a été déterminé comme étant linéaire de 2,5 mg/dL à 200 mg/dL avec une déviation de la ligne linéaire de moins ou égal à 4 mg/dL ou 5 %. Les échantillons de patients avec des niveaux de cholestérol HDL excédant 200 mg/dL devraient être dilués avec une solution physiologique salée avant le dosage. Multiplier le résultat obtenu de la dilution manuelle par le facteur de dilution approprié.

ÉTUDES DE PRÉCISION

A l'intérieur de chaque lot, la précision de la méthode HDL Ultra Cholesterol a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Chaque lot consistait en vingt échantillons reproduits. Les études de précision pour chaque lot ont donné les résultats suivants pour l'Analyseur Hitachi 911:

Mélange de sérum	**FAIBLE**	**MOYEN**	**ÉLEVÉ**
n	20	20	20
Moyenne (mg/dL)	32,9	50,6	101,4
Déviation standard (mg/dL)	0,3	0,2	0,7
Coefficient de variation (%)	0,8	0,5	0,7

La précision entre les lots a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Le dosage HDL Ultra Cholesterol a été effectué en double et analysé deux fois par jour durant 10 jours. Les études de précision entre les lots ont donné les résultats suivants:

Mélange de sérum	**FAIBLE**	**MOYEN**	**ÉLEVÉ**
n	40	40	40
Cholestérol HDL moyen (mg/dL)	32,8	50,0	100,1
Déviation standard (mg/dL)	0,4	0,7	1,1
Coefficient de variation (%)	1,3	1,5	1,1

DÉTERMINATION DE L'ERREUR TOTALE

L'erreur totale[11,17,18] est une mesure de la performance analytique globale pour un dosage et combine l'exactitude et la précision. L'erreur totale est égale au % de tendance + 1,96 x le C.V. total. (CVT).[19] Le % de tendance du dosage HDL Ultra Cholesterol a été calculé en utilisant la formule de régression linéaire, dérivée d'une comparaison de la méthode HDL Ultra Cholesterol à la Méthode de comparaison désignée pour le cholestérol HDL montrée ci-dessus.[17,18] Le CV est calculé comme $CV_T = (CV_B^2 + CV_W^2)^{1/2}$.[19] Le résultat de l'analyse d'erreur totale pour le dosage HDL Ultra Cholesterol sur l'Analyseur Hitachi 911 aux niveaux de cholestérol HDL faible, moyen et élevé en utilisant des échantillons avec des triglycérides <400 mg/dL sont montrés ci-dessous.

Concentration de cholestérol HDL	**% de tendance**	**CV total**	**Erreur totale**
30 mg/dL	8,05 %	1,53 %	11,05 %
50 mg/dL	4,31 %	1,58 %	7,40 %
80 mg/dL	2,21 %	1,29 %	4,73 %

EXACTITUDE

L'exactitude de la méthode ULTRA HDL Cholesterol a été vérifiée en comparaison avec la Méthode de comparaison désignée

(MCD) pour le cholestérol HDL[12] et le dosage précédent par HDL Ultra Cholesterol.

Des études comparant le dosage HDL Ultra Cholesterol au MCD ont donné les résultats suivants sur l'Analyseur Hitachi 911:

Méthode	HDL Ultra Cholesterol	Méthode de comparaison désignée (MDC)
n	52	52
Moyenne (mg/dL)	58,3	56,3
Plage (mg/dL)	33,6-133,0	32,0-133,0
Analyse de régression	Ultra = 0,99 (MCD) + 2,81 mg/dL	
Coefficient de corrélation	0,996	

Des études comparant la méthode HDL Ultra Cholesterol à la méthode précédente HDL Direct Liquid Select Cholesterol ont donné les résultats suivants:

Méthode	HDL Ultra Cholesterol	Précédent HDL Direct Liquid Select Cholesterol
n	101	101
Moyenne (mg/dL)	56,4	54,2
Plage (mg/dL)	33,6-133,0	31,5-132,8
Analyse de régression	Ultra = 0,98 (Liquid) + 3,42 mg/dL	
Coefficient de corrélation	0,996	

AUTRES ÉTUDES DE PERFORMANCE

Dans une étude comparant la méthode HDL Ultra Cholesterol à la méthode de référence (MR) pour le cholestérol HDL (ultracentrifugation, précipitation chimique et analyse de cholestérol Abell-Kendall)[11] 41 échantillons de patients avec des valeurs de triglycéride élevées (niveaux de triglycerides plus grands que le 95e percentile) ont été analysés. Le coefficient de corrélation pour cette étude était r = 0,968 et l'équation de régression était HDL Ultra Cholesterol = 1,01 RM – 2,48 mg/dL. Les échantillons de patient avec des niveaux de triglycéride jusqu'à 2 000 mg/dL peuvent être utilisés.

Des études distinctes comparant le dosage HDL cholesterol lyophilisé à la méthode de précipitation de l'acide phosphotungstique (APT) à trois laboratoires de cabinet médical (LCM) ont donné les résultats suivants:

Méthode actuelle LCM	LCM Site 1	LCM Site 2	LCM Site 3
n	40	42	40
HDL moyen (mg/dL)	47	45	58
Plage de HDL (mg/dL)	24,4-89,7	28,3-94,9	25,8-97,1
Pente	0,88	1,05	0,77
Point d'intersection (mg/dL)	2,90	-1,32	11,10
Coefficient de corrélation	0,97	0,99	0,98

A l'intérieur de chaque lot, la précision aux trois sites LCM a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Chaque lot consistait en vingt échantillons reproduits. Les études de précision pour chaque lot aux trois sites LCM on donné les résultats suivants:

Mélange de sérum	FAIBLE <35 mg/dL	MOYEN 35-60 mg/dL	ÉLEVÉ >60 mg/dL
Site LCM 1	n=20	n=20	n=20
Moyenne (mg/dL)	19,5	44,1	70,8
D.S. (mg/dL)	0,6	1,8	1,1
C.V. (%)	2,9	4,0	1,5
Site LCM 2	n=20	n=20	n=20
Moyenne (mg/dL)	29,5	49,3	71,5
D.S. (mg/dL)	1,8	2,4	3,6
C.V. (%)	6,2	4,8	5,1
Site LCM 3	n=20	n=20	n=20
Moyenne (mg/dL)	33,3	45,6	76,8
D.S. (mg/dL)	0,3	0,4	0,5
C.V. (%)	1,0	0,8	0,7

Remarque: Chaque site a reçu un ensemble unique de trois mélanges de sérum.

La précision entre les lots a été déterminée à trois sites LCM en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Le dosage HDL cholesterol a été effectué en double durant plusieurs jours. Les études de précision entre les lots ont donné les résultats suivants:

Mélange de sérum	FAIBLE <35 mg/dL	MOYEN 35-60 mg/dL	ÉLEVÉ >60 mg/dL
Site LCM 1	n=16	n=16	n=16
Moyenne (mg/dL)	19,0	41,2	65,3
S.D. (mg/dL)	1,3	1,8	3,4
C.V. (%)	6,9	4,5	5,2
Site LCM 2	n=20	n=20	n=20
Moyenne (mg/dL)	25,7	46,4	68,2
S.D. (mg/dL)	1,4	1,6	2,4
C.V. (%)	5,3	3,4	3,5
Site LCM 3	n=40	n=40	n=40
Moyenne (mg/dL)	33,6	45,7	76,2
S.D. (mg/dL)	0,8	0,9	1,5
C.V. (%)	2,4	2,0	2,0

Remarque: Chaque site a reçu un ensemble unique de trois mélanges de sérum.

Tous les noms commerciaux, les noms de marque de commerce, de marque et de produit sont la propriété de leurs sociétés respectives.

SEKISUI DIAGNOSTICS

Les Amériques
Sekisui Diagnostics P.E.I. Inc.
70, avenue Watts
Charlottetown
(Île-du-Prince-Édouard)
C1E 2B9 Canada
Téléphone: 1-800-565-0265
Télécopieur: 902-628-6504
Courriel: questions@sekisuidiagnostics.com
peidiagnostictechnical@sekisuidiagnostics.com

International
Sekisui Diagnostics (UK) Limited
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, RU
Courriel: info@sekisuidiagnostics.com

www.sekisuidiagnostics.com

Definitions for Symbols/ Définitions des Symboles

Batch Code
Numéro de lot

Manufacturer
Fabricant

Consult instructions for use
Consulter les directives d'utilisation

In vitro diagnostic medical device
Appareil médical de diagnostic *in vitro*.

Use by
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Utilisé avant le
AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM

Catalog number
Numéro de catalogue

Temperature limitation
Limite de température

Caution, consult accompanying document
Prudence, consulter les documents joints

REFERENCES/RÉFÉRENCES

1. Gotto, AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23; Suppl. 1, 4 (1988).
2. Crouse, JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26;566 (1985).
3. Badimon, JJ, Badimon, L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 1990; 85:1234-41.
4. Castelli, WP et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55;767 (1977).
5. Barr, DP, Russ EM, Eder, HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11; 480 (1951).
6. Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J, Med., 62;707 (1977).
7. Williams, P., et al, High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1; 72, (1979).
8. Kannel, WB, Castelli, WP, Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Ann. Intern. Med., 90:85, (1979).
9. National Institutes of Health publication No. 93-3095, September, (1993).
10. Special Communication, Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), JAMA, Vol. 285, No. 19, May 16, 2001, pages 2486 – 2497.
11. Warnick, GR, Wood, PD, National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1427-1433 (1995).
12. Kimberly MM, Leary ET, Cole TG and Waymack PP. Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the cholesterol reference method laboratory network. Clin Chem 1999. 45:1803-12.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 6, No. 13, August (1986).
14. Young, DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
15. Camps, J, Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-Cholesterol, Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688.
16. Tietz, NW, Clinical Guide to Laboratory Tests, WB Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.
17. Carey RN, Garber CC. Evaluation of methods. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company, St. Louis, MO., 1996: 402-423.
18. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974; 20:825-833.
19. Bachorik PS, Ross JW, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurements. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995, 41:1414-1433.
20. National Reference system for Cholesterol. CRMLN HDL Cholesterol Protocol, November 2002.
21. Kimberly MM, Leary ET, Cole TG, Waymack PW. Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the Cholesterol Reference Method Laboratory Network. Clinical Chemistry 1999;
45:1803-12.

Licensed under PCT/JP00/03860 and PCT/JP97/04442

Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi Nutrition AB

©2011 Sekisui Diagnostics, LLC - All rights reserved.

Licencié sous PCT/JP00/03860 et PCT/JP97/04442

Intralipid® est une marque de commerce déposée de Fresenius Kabi Nutrition AB

©2011 Sekisui Diagnostics, LLC - Tous droits réservés.

IN6121-1
May 1, 2013